

APLICACIÓN de una **NARIZ ELECTRÓNICA** para la MEDIDA de AROMAS EMITIDOS por **MANZANAS CV. FUJI** CONSERVADAS con DIFERENTES TECNOLOGÍAS

Eva Cristina CORREA HERNANDO¹, Dra. Ingeniera Agrónoma. Profesora Universidad Católica de Ávila;
Pilar BARREIRO ELORZA¹, Dra. Ingeniera Agrónoma. Profesora Titular; Margarita RUIZ ALTISEN¹, Dra. Ingeniera Agrónoma.
Catedrática; M^a Luisa LÓPEZ FRUTUOSO², Profesora Titular de Universidad; Jordi GRAELL², Catedrático de Escuela
Universitaria; Gemma ECHEVERRÍA², Investigadora.

(1) Laboratorio de Propiedades Físicas. Departamento de Ingeniería Rural de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid.

(2) Laboratorio de Postcosecha CeRTA, UdL-IRTA, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria de Lleida.

Resumen

La nariz electrónica (NE) "Libra Nose" se basa en una matriz de 8 sensores del tipo Microbalanzas de Cristal de Cuarzo. Estudios previos muestran que es posible utilizar una NE para hacer un seguimiento de la evolución de la calidad de fruta sometida a diferentes periodos de almacenamiento. En este trabajo se muestra que al analizar la emisión aromática de frutos de manzana cv. Fuji con una NE y un cromatógrafo de gases, es posible por una lado detectar con la NE diferencias significativas en el espacio de cabeza generado por manzanas sometidas a diferentes tiempos de almacenamiento y periodos de vida en estantería, y por otro lado establecer para los frutos almacenados en condiciones de frío normal y atmósfera controlada estándar, una correlación positiva entre la respuesta de los sensores de la NE y la emisión de uno de los compuestos predominantes en el aroma de la variedad Fuji, el acetato de hexilo.

Palabras Clave: Aroma, Calidad en manzanas, Cromatografía de gases, Nariz electrónica, Sensores de cuarzo.

Abstract

Application of an electronic nose to assess the aroma emitted by Fuji apples, stored under different technologies. The "Libra Nose" electronic nose (EN) has eight Quartz Microbalance Sensors. Previous studies show that it is possible to use an EN to assess fruit quality mainly when the factor "storage period" is considered. In this paper, a study using data of the aroma volatiles emission for Fuji apple, determined by EN and gas chromatography, shows that it is possible to detect with the EN significant differences in the headspaces of apple for several storage periods and shelf-life. Also, a positive correlation for the fruit stored under normal and standard controlled atmosphere is found between the sensor response and the emission of a predominant compound of Fuji aroma, hexyl acetate.

Key words: Aroma, Apple quality, Electronic nose, Gas chromatography, Quartz sensors.

Introducción

El consumidor cree hoy que comer bien es comer variado tanto organolépticamente como nutricionalmente, mostrando una preferencia muy clara por productos frescos y naturales donde la fruta juega un papel fun-

damental. La fruta se identifica así como un producto de futuro, es decir, como un producto que va a desarrollarse fuertemente en los próximos 10 años, tendencia que se justifica por el interés y primacía de lo sano, unido a la comodidad y a la rapidez, siendo en primer lugar la mujer (sin rol de ama de casa), la que apuesta por esta evolución.

El árbol general de decisión de compra en la sección de frutas y hortalizas de las grandes superficies muestra que el 83% de los consumidores elige la variedad de fruta a comprar en función de su calidad (FERNÁNDEZ and SAA 2001). Se define así un nuevo perfil del consumidor de la Unión Europea (ver Cuadro 1), consumidor que consi-

CUADRO 1

Definición del nuevo perfil de consumidor de la UE*

Nuevo perfil de consumidor de la Unión Europea	
Cada vez más exigente en cuanto a calidad:	Aroma Sabor
Cada vez más preocupado por el valor nutritivo y dietético de los alimentos. En concreto, el consumo de frutas para prevenir:	Enfermedades carenciales Enfermedades degenerativas Estreñimiento (elevado contenido en fibra)
Cada vez más consciente de emplear técnicas respetuosas con el Medio Ambiente	

(*) LLAMAZARES AND MARTÍNEZ 2001.

dera fruta de calidad a la que posee buen aspecto, sabor, olor y alto valor nutritivo.

Para determinar la calidad organoléptica de los alimentos es necesario realizar una valoración sensorial de los mismos, en la que los compuestos aromáticos son un importante grupo de sustancias dado que influyen en el olor y flavor de la fruta a través del olfato. Los aromas son, por tanto, responsables en gran medida de la calidad sensorial del producto y pueden ser empleados como un parámetro objetivo de calidad.

Típicamente la medida del olor se basa en la evaluación sensorial realizada por un panel de catadores expertos, el olor puede ser así clasificado desde un punto de vista cuantitativo, es decir intensidad de olor, y desde un punto de vista cualitativo o hedónico. Sin embargo, el análisis sensorial presenta limitaciones en la realización de medidas de olores específicos que caractericen totalmente un sistema de interés. No es una técnica adaptada para medidas en continuo o semi-continuo de un olor debido entre otras cosas a su elevado coste. Desde el punto de vista de la Química Analítica, la combinación de las técnicas de Cromatografía

de gases (CG) y espectrometría de masas (EM), permite caracterizar perfectamente un olor, identificando y cuantificando los distintos volátiles que lo componen y por tanto el sistema bajo estudio, pero ofreciendo una información muy diferente a la del olfato humano en la medida que los volátiles son separados con anterioridad a su cualificación.

Por ello, se ha planteado en este trabajo la posibilidad de usar una relativamente nueva técnica basada en el uso de sensores de aromas o "narices electrónicas" (NE) potencialmente útil para la evaluación objetiva (*versus* la subjetividad del análisis sensorial) y global (*versus* individualización de la CG) de la intensidad de olor de los compuestos

volátiles que son responsables de la calidad aromática de la fruta.

Se han descrito algunas aplicaciones con resultados positivos del uso de las NE como técnica de análisis global del aroma de la fruta (SAEVELS *et al.* 2002), (BREZMES *et al.* 2001). La mayoría de éstas plantean la evaluación del efecto del tiempo de almacenamiento, ya sea en frío o en estantería, sobre la calidad de la fruta, siendo prácticamente inexistentes los estudios que evalúen el efecto de las distintas atmósferas de frigoconservación sobre la emisión aromática de la fruta. Por otro lado, no son frecuentes en la bibliografía trabajos que muestren comparaciones entre la información aportada por la NE y aquella obtenida por CG.

Materiales y métodos

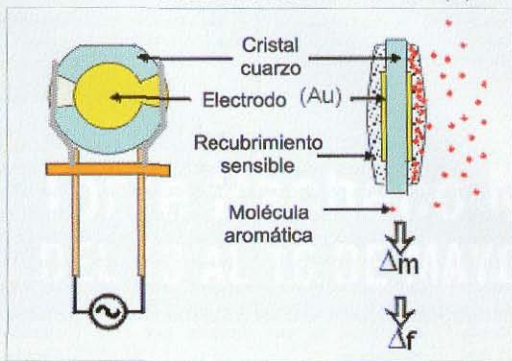
La NE "Libra Nose" está formada por 8 sensores de microbalanzas de cristales de cuarzo (QCM) recubiertos con láminas de material sensible basado en una molécula orgánica llamada porfirina combinada para cada sensor (S) con diferentes metales (Mn (S1), Cop-OCH3 (S2), Cop-NO2 (S3), Ru (S4), Sn (S5A), Sn (S5B), Cr (S7) y Co (S8)) lo que confiere a cada uno ligeras diferencias en cuanto

to sensibilidad y especificidad. Cuando una masa es adsorbida sobre la superficie del cristal de cuarzo la frecuencia de oscilación disminuye en proporción a la cantidad de masa depositada. La variable usada como respuesta de cada sensor ante una muestra volátil es el incremento que experimenta la señal antes y después del muestreo (Δf , Hz) (ver Gráfico 1).

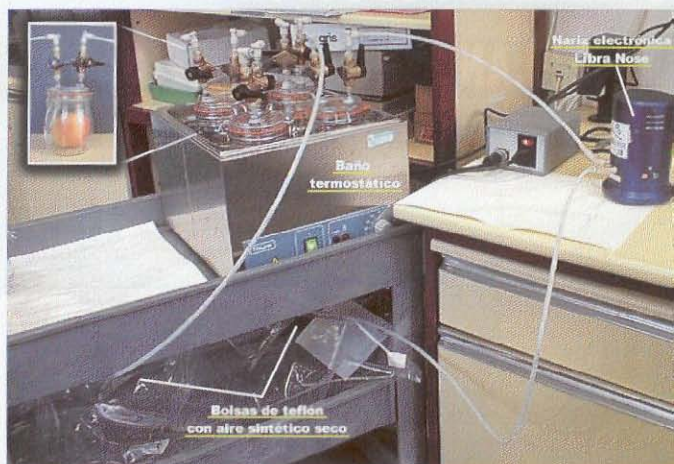
En este estudio, la generación del espacio de cabeza se llevó a cabo colocando un único fruto entero en el interior de un bote hermético

GRÁFICO 1

Diagrama esquemático de un sensor de gas QCM (modificado de (FRANCK 1999)), donde la variación de la masa adsorbida (Δm) sobre el sensor conduce a una variación en su frecuencia de oscilación (Δf)



ticamente cerrado de 0.75 l. Se instaló sobre las tapas dos llaves de paso para facilitar la transferencia del espacio de cabeza a la NE. El tiempo de generación del espacio de cabeza empleado fue de 1 hora, de forma que se alcance el equilibrio entre la fase gaseosa y líquida. Un flujo de 0.2 l/min, generado por succión por la micro bomba que se encuentra en el interior de la NE, lleva el efluente a través de una de las válvulas hacia los sensores. Al mismo tiempo, la segunda válvula se abre entrando a través de ella el gas portador para evitar depresiones en el interior del recipiente. Una vez que la muestra llega a los sensores y modifica su frecuencia de oscilación, la cámara de medida debe ser limpiada. Para lo cual es de nuevo la micro bomba de la nariz electrónica la que genera un flujo por succión de 0.2 l/min, haciendo que el gas portador arrastre y elimine la muestra de la cámara de los sensores, recuperando éstos su nivel base de frecuencia de oscilación (ver Foto 1). El gas portador usado tanto para la transferencia del espacio de cabeza como para la limpieza de la cámara de los sensores es aire sintético seco C50 (Carburos Metálicos, S.A.), almacenado en bolsas herméticas de Teflón para evitar comunicar sobre presiones a la micro bomba de la nariz electrónica.



1.- Imagen explicativa del sistema de transferencia del espacio de cabeza generado por un único fruto entero desde el recipiente de cristal hermético hasta la nariz electrónica, usando como gas portador y de limpieza aire sintético seco contenido en bolsas inertes de teflón

En este estudio, se ha llevado a cabo un experimento a gran escala con fruta en el Laboratorio de Propiedades Físicas de la Escuela de Agrónomos de Madrid analizando el aroma generado por cada fruto con la NE. Simultáneamente, los investigadores del Laboratorio de Tecnología (Área de Poscosecha) del Centro UdL IRTA de Lleida realizaron la

extracción de los aromas emitidos por frutos intactos mediante espacio de cabeza dinámico y análisis del mismo por CG/EM según el método descrito por LÓPEZ *et al.* (1998). Este método permite la identificación y cuantificación ($\mu\text{g/kg}$) de los distintos compuestos volátiles de la mezcla aromática emitida por la fruta. El objetivo de mencionado diseño experimental puede resumirse en:

- ◆ Segregación de manzanas cv *Fuji* en distintos estados de calidad aromática (madurez) empleando la NE, tras haber sido sometidas a diferentes condiciones de: tiempo de almacenamiento (3, 5 y 7 meses), de vida en estantería (1, 5 y 10 días) y de tipo de almacenamiento (frío normal (FN), atmósfera controlada estándar (ACS) y ultra bajo oxígeno (ULO)), para dos fechas de recolección (temprana: 9/10/00 y tardía: 19/10/00). Los lotes estuvieron constituidos por 12 frutos, analizándose un total de 360 frutos (ver Cuadro 2).

- ◆ Comparación de los resultados obtenidos con la NE con aquellos correspondientes a la técnica de referencia CG/EM.

BIOAGA
Cellular Biology Laboratory
Los Angeles - California - U.S.A.
www.bioaga.com

Distribuidor: **BERLIN BIOTEC (BIOAGA)** (España)
Tel. 902.154.531 • Fax 948.828.437

CEN FERTILIZANTE CIENTÍFICO

Registrado en U.S.A. nº F-1417

RECORDS DE PRODUCCIÓN CON CEN

- 9.000 kg de trigo por ha.
- 11.500 kg de cañada por ha.
- 22.000 kg de maíz por ha.
- 14.500 kg de arroz por ha.
- 215.000 kg de tomate por ha.
- 145 kg de clementina por árbol 90% 1ª
- 80.000 kg Marisol por ha. (56% extra, 42% 1ª)
- 14.000 kg de uva de vino en seco por ha. (1ª)
- 80.000 kg de patatas por ha.
- 250 kg de aceitunas por árbol
- Arroz con 2,1 mg/kg de Vitamina A más 400% de Vitamina E

BIOAGA, a la cabeza de la alta tecnología con sus Abonos CEN conocidos internacionalmente por sus excelentes resultados: Producción y Calidad.

FERTILIZANTES Y PIENSOS ECOLÓGICOS:

- **EKOLOGIK®**: Fertilizante natural. Autorizado en la UE para agricultura ecológica.
- **CEM®**: Pienso Natural. Registro en USA nº 583. Autorizado en la UE para ganadería ecológica. Conversión 1,57.

OTRAS MEDALLAS DE ORO, PLATA Y BRONCE CONSEGUIDAS EN VINO POR CLIENTES DE CEN

Empresa ganadora de DOS ESTRELLAS INTERNACIONALES DE ORO: Una a la TECNOLOGÍA y otra a la calidad; TROFEO al PRESTIGIO COMERCIAL



**Para prevenir el RUSSETING
de las manzanas**

NOVAGIB®

REGULADOR DEL CRECIMIENTO NATURAL



IM MASSO
DIVISIÓN AGRO

FAL
FINE AGROCHEMICALS

Resultados y discusión

Nariz electrónica

El análisis estadístico mediante componentes principales de la respuesta de los sensores al muestrear el espacio de cabeza generado por manzanas cv Fuji indica que siete de los ocho sensores de la NE están aportando una información muy similar respondiendo significativamente (varianza explicada 62,1%) en primer lugar al efecto del factor periodo de almacenamiento en cámara y en segundo lugar al factor vida en estantería. Estos sensores están respondiendo hacia algún volátil que evoluciona según estos dos factores, permitiendo la información registrada por la NE diferenciar entre los tres periodos de almacenamiento considerados principalmente cuando se busca la interacción de este factor con el periodo de vida en estantería. La máxima diferencia entre tiempos de almacenamiento se detecta inmediatamente después de la salida del fruto de cámara, es decir, tras 1 día de vida en estantería (ver *Gráfico 2*).

El factor que introduce menor variabilidad en el conjunto de los datos es el tipo de almacenamiento cuyo efecto resulta no significativo. SAEVELS, D. NATALE y NICOLAI (2002), con el mismo equipo de NE, son capaces de diferenciar entre distintos tiempos de vida en estantería como hemos podido comprobar en este trabajo. Estos mismos autores y comúnmente con nuestros datos no pudieron detectar diferencias significativas en lotes de manzana Jona Gold correspondientes a almacenamientos en distintas atmósferas.

Nariz electrónica versus CG/EM

Del análisis de los datos obtenidos por CG/EM se observa que la emisión aromática de manzanas Fuji varía significativamente, primero, con el tiempo de vida en estantería y, en segundo lugar, con el tipo de atmósfera en la cámara de almacenamiento. Así, sobre los frutos almacenados en las condiciones de ULO₂, y especialmente para tiempos de maduración en estantería,

CUADRO 2

Características del diseño factorial

Fecha recolección	Tiempo almacenamiento (meses)	Condiciones de almacenamiento			Vida estantería (días)
		Tipo	%O ₂	%CO ₂	
1 (9/10/00)	3	FN	21	0,03	1
2 (18/10/00)	5	ACS	3	2	1
	7	ULO1	1	1	5
		ULO2	1	2	10

Para todas las condiciones de almacenamiento las cámaras se mantuvieron a 1°C y a un 92% de humedad relativa. FN: frío normal, ACS: atmósfera controlada estándar, ULO1: ultra bajo oxígeno bajo dióxido de carbono, ULO2: ultra bajo oxígeno alto dióxido de carbono.

GRÁFICO 2

Proyección de los individuos en el Análisis de Componentes Principales según el tiempo de almacenamiento en cámara para frutos con 1 día de vida en estantería (n=120 frutos). El Factor 2 está definido por el S3 mientras que el Factor 1 aúna la información conjunta de los otros 7 sensores de la NE

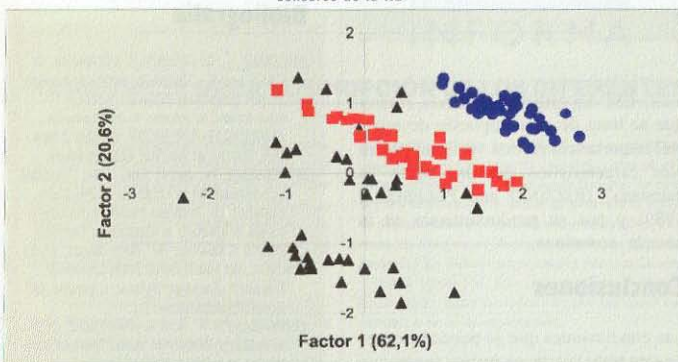
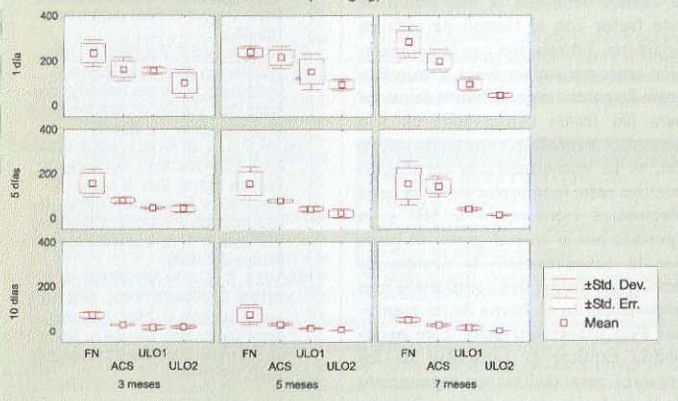


GRÁFICO 3

Evolución de la emisión de acetato de hexilo a lo largo de tres tiempos de almacenamiento, cuatro atmósferas de conservación y tres tiempos de vida en estantería

Acetato de hexilo (microg/kg)



Cosechemos juntos, un mundo de innovación

Grupo GALA:

BROOKFIELD® Baignet c.o.v.
GALAXY Selecta® c.o.v.
GALE GALA c.o.v.
BUCKEYE® Simmons c.o.v.

Grupo RED DELICIOUS:

EARLY RED ONE® Ervan c.o.v.
REDCHIEF® Campur c.o.v.

Grupo BRAEBURN:

MARINI RED c.o.v.
JOBURN c.o.v.
HILLWELL® Hida c.o.v.

Grupo ELSTAR:

DALSTAR c.o.v.
ELTON® Daintier c.o.v.

Diversas variedades PRECOCES:

AMBASEY® Dalli c.o.v.
R.d. Reinettes BONNIN® c.o.v.

Grupo GRANNY:

CHALLENGER® Dalivar c.o.v.

Diversas variedades:

Typo 2: RAKU RAKU,
Typo 3: KIKU® 8 y
DALIRYAN c.o.v.
CORAIL® Pinova c.o.v.
BOSKOOP Clón BIELLA®
IDARED
PILOT

Grupo FUJI:

Typo 2: RAKU RAKU,
Typo 3: KIKU® 8 y
Typo 4: NAGAFU y NAGAFU N°2

PERAL:

CONFERENCE, COMICE,
WILLIAM®

Grupo GOLDEN:

REINDERS® c.o.v.
PINKGOLD® Lerales c.o.v.

Grupo RESISTENTES a las rasas cortinas de MOTEADO:

Resistencia: portainjertos de peral
DALINRED (DL) c.o.v.
COLUMBIA® Coop 38 c.o.v.
INITIAL c.o.v.

Grupo RUBINETTE:

ROSSO Rajzibex c.o.v.

MALUS ORNAMENTALES

Portainjertos de manzano:

Lizay P16, M9 (Pajam)® y 2,
T337 y ENLA,
SUPPORTER 4 P180 y M1106.

Portainjertos de peral:

EM C, SYDO, ADAMS, EM A y
BA 29.

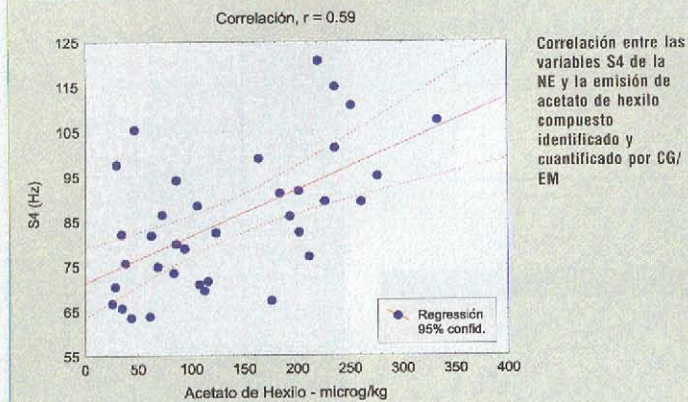
Grupo de VARIEDADES ASOCIADAS a Organismos de MARKETING



DL, S.A. 75, Avenue Jean Joxé 49100 Angers-France
web: www.dalicom.com
Su contacto:

PARETA RUBAU, S.L.
Carrer del Pla, 4 - 17135 TOR (Girona)
Tel. 972 78 02 35 - Fax 972 78 03 76
e-mail: pareta-rubau@retmail.es

GRÁFICO 4



superior a 5 días, los que producen menos aromas. Las máximas emisiones y máxima variación del rango de datos se han encontrado para los frutos almacenados en condiciones de FN y ACS, razón por la que se van a seleccionar estas cámaras para realizar la comparación entre la NE y la CG/EM (ver Gráfico 3).

El estudio conjunto de los datos correspondientes a la NE y a la CG/EM mediante el cálculo de la matriz de correlaciones permite detectar la existencia de una correlación positiva entre los sensores de la NE S4 y S5B y la emisión de acetato de hexilo ($r_{AcHexilo \text{ vs } S4} = 0.59$, $r_{AcHexilo \text{ vs } S5B} = 0.58$) (ver Gráfico 4). Es decir, al aumentar la tasa de emisión de acetato de hexilo, aumenta la señal de los sensores citados lo que permite realizar un seguimiento de la evolución de los frutos conservados en condiciones de FN y ACS a lo largo del tiempo de vida en estantería. Los niveles máximos de emisión, y por tanto de señal de estos sensores, se detectan para los frutos sometidos a 7 meses de almacenamiento frigorífico inmediatamente tras la salida de cámara. Si bien el nivel de correlación encontrado es demasiado bajo como para resultar determinante, cabe destacar que es muy difícil encontrar algún tipo de correlación entre las técnicas de análisis de NE

y CG/EM. En este caso, además, resalta que se trata de un compuesto de especial importancia en esta variedad por su olor característico descrito como "a manzana" (RIZZOLO and POLESSELLO 1989) y por su predominancia en la mezcla aromática.

Conclusiones

Las conclusiones que se pueden extraer de este trabajo son, en primer lugar, que la información aportada por todos los sensores de la nariz electrónica (exceptuando el S3) permite la diferenciación entre los tres tiempos de almacenamiento considerados, fundamentalmente cuando se busca la interacción de este factor con el tiempo de vida en estantería. En relación con la comparación entre nariz electrónica y cromatógrafo de gases / espectrómetro de masas para los frutos conservados en frío normal y atmósfera controlada estándar, se ha encontrado una correlación positiva entre la información de la nariz electrónica (sensores 4 y 5B) y la aportada por la cromatografía de gases por la concentración de acetato de hexilo, uno de los tres compuestos más importantes en el aroma de las manzanas Fuji frigoconservadas. Este hecho podría explicar la capacidad de los sensores para realizar un seguimiento de la evolución de los frutos a lo largo

del periodo de almacenamiento en cámara y el periodo de vida en estantería. Sin embargo, la nariz electrónica presenta graves problemas de falta de reproducibilidad y por tanto, hoy por hoy, su aplicabilidad a gran escala es limitada.

Agradecimientos

La financiación de este trabajo ha sido realizada por la Universidad Politécnica de Madrid (beca FPI), INIA (beca FPI) y por los proyectos nacionales CICYT (AROFU AL198-0960-CO2-01 y AL198-0960-CO2-02).

Bibliografía

- BREZMES, J., E. LLOBET, X. VILANOVA, G. SAIZ, and X. CORREIG. 2001. Evaluation of the Electronic Nose as a Novel Instrument to Assess Fruit Ripeness. *EURODEUR-AIRODEUR. La Métrologie des Odeurs et les Nez Electroniques*.
- FERNÁNDEZ, R., and P. SAA. 2001. Realidad Económica de la Fruta en el Mercado Español. Un Análisis desde la Perspectiva de la oferta y la Demanda. *Distribución y Consumo*, no. Abril-Mayo: 57-77.
- FRANCK, M. 1999. Solid State Chemical Sensors. *Summer School «Sensors for Food Applications»*.
- LLAMAZARES, A., and A. MARTÍNEZ. 2001. El Análisis Sensorial como Método para Evaluar La Calidad Final de las Frutas (I). *Informaciones Técnicas. Dirección General de Tecnología Agraria*, no. 94: 1-8.
- LÓPEZ, M. L., M. T. LAVILLA, M. RIBA, and M. VENDRELL. 1998. Comparison in Volatile Compounds in two Seasons in Apples: Golden Delicious and Granny Smith. *Journal of Food Quality*, no. 21: 155-66.
- RIZZOLO, A., and A. POLESSELLO. 1989. CGC/Sensory Analysis of Volatile Compounds Developed from Ripening Apple Fruit. *Journal of High Resolution Chromatography*, 12: 824-27.
- SAEVELS, S., C. DI NATALE, and B. NICOLAI. 2002. Electronic Nose Technology to Evaluate Picking Date of Apples. *6th International Symposium of Fruit, Nut, and Vegetable Production Engineering*, 519 Institute of Agricultural Engineering Bornini e. V. (ATB).
- SAEVELS, S., E. A. VERABERBEKE, A. Z. BERNA, J. LAMMERTYN, C. DI NATALE, and B. M. NICOLAI. 2002. Evaluating Apple Quality after Storage by Means of an Electronic Nose and GC. *EurAgEng 2002*, 02-Ph-031.